

Tumorigenezis: a mintázatafelismerő receptorok és az autofágia jelátviteli összefüggései

MÚZES GYÖRGYI, SIPOS FERENC

Semmelweis Egyetem, II. Sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

Levelezési cím:

Dr. Múzes Györgyi,
Semmelweis Egyetem, II. Sz. Belgyógyászati Klinika,
1088 Budapest, Szentkirályi u. 46. Tel.: +36-1-266-0926,
e-mail: muzes.gyorgyi@med.semmelweis-univ.hu

Közlésre érkezett:

2015. november 27.

Elfogadva:

2016. január 4.

Egyre több adat támasztja alá az autofágia tumorigenezisben betöltött szerepét. A Toll-like receptorok (TLR) patogén/veszély-asszociált molekuláris mintázatokra (PAMP/DAMP) történő reagálása szintén elősegítheti a tumorképződést és az immunválasz elkerülését. A TLR-ek az immunkompetens sejtek mellett számos tumorsejten is expresszálódnak. Másrészt viszont mind a TLR-ekhez, mind az autofágiához kapcsolódó jelátviteli utak – a sejtípus és a környezet függvényében – tumorsuppresszor hatást is gyakorolhatnak. Az autofágia megítélése az utóbbi években jelentősen változott: az eukarióta sejtek homeosztázisának fenntartása mellett az immunrendszer fontos, integratív eleme, hiszen aktív részese az infekciókontrollnak, a gyulladás és az immunválasz szabályozásának. Úgy tűnik, hogy a PAMP/DAMP-ok révén a TLR-jelátvitel és az autofágia egymással szoros függőségben aktiválódnak, és egymás kölcsönös szabályozására is képesek. A „személyre szabott” kezelés szellemében a jövő kutatásainak egyik várható iránya az egyes daganattípusokra jellemző „egyedi” autofágia-TLR kölcsönhatások felfedése, együttesen a gyulladásos stróma és az immunogenitás sajátosságaiival, mely újabb tumorelles terápiai stratégiák alapjául szolgálhat. Magyar Onkológia 60:55–63, 2016

Kulcsszavak: autofágia, Toll-like receptor, tumorigenezis, gyulladás, immunválasz

According to recent data, the involvement of autophagy in tumor development is unquestionable. Nevertheless, cell-derived pathogen/danger-associated molecular pattern (PAMP/DAMP)-sensing Toll-like receptors (TLRs) are also able to contribute to tumorigenesis and immune escape of malignantly transformed cells. Besides immunocompetent cells, several types of tumors also exhibit TLRs. TLR- and autophagy-related signaling pathways, on the other hand, may evolve anti-tumor effects in a context dependent cell- and microenvironment-specific mode. Nowadays, the autophagy machinery has been considered as a crucial homeostatic process of eukaryotic cells, and as essential constituent of the immune system influencing antimicrobial and inflammation-related immune responses. Accumulating evidence indicates that TLRs and autophagy are interdependent in response to PAMPs and DAMPs, in addition there is a bi-directional controlling cross-modulation between them. Regarding personalized medicine, theoretically, it is reasonable that manipulation of the TLR-autophagy regulatory loop might be adaptable for anti-cancer therapy.

Múzes G, Sipos F. Tumorigenesis: interplay of pattern recognition receptors and autophagy. Hungarian Oncology 60:55–63, 2016

Keywords: autophagy, Toll-like receptor, tumorigenesis, inflammation, immune response

BEVEZETÉS

Világszerte ismert a rosszindulatú daganatok okozta növekvő tendenciájú morbiditás és mortalitás társadalmi, gazdasági jelentősége, ezért mind hatékonyabb terápiás stratégiák kifejlesztésére van szükség. Az elméleti immunológia és a molekuláris biológia nagyívű fejlődése, az új ismeretek az onkológia területén is lényeges szemléletváltást eredményeztek. A mind újabb összefüggések felismerésével folyamatosan változnak a tumorok kialakulásáról, megjelenéséről és kezeléséről kialakított hagyományos nézeteink.

A malignusan transzformálódott sejtklonok kontrollálatlan proliferációja daganatok kialakulásához és terjedéséhez vezet a szervezet protektív immunválaszának egyidejű elkerülésével. A tumorigenezis többlépcsős, komplex folyamata döntően a daganatsejtek intrinszc faktorainak és a gazdaszervezet immunológiai felügyelő (surveillance) funkciójának kölcsönhatásain alapul, melyet azonban a környező stróma és a zajló gyulladás is alapjaiban befolyásol (1). A karcinogenezisben betöltött szerepe alapján napjainkban már a (módosult) autofágiát (is) a rákosan elfajult sejtek egyik jellemző jegyeként (markerként) értékeli (2). Az autofágia a daganatossejtek túlélésének és önmegújító képességének támogatása révén is hozzájárul tumorok kialakulásához.

Celluláris szinten az ún. veszélyjelek mintázatfelismerő receptorokon (pattern recognition receptor, PRR) keresztül képesek a természetes/veszélytett és a szerzett/adaptív immunválasz beindítására (3, 4). A Toll-like receptorok (TLR) reagálása a patogén/veszély-asszociált molekuláris mintázatokra (pathogen/damage-associated molecular pattern, PAMP/DAMP) egyúttal azonban a tumorigenezist és az immunválasz elkerülését (immune escape) is elősegítheti. A TLR-ek nemcsak immunkompetens sejteken, de számos tumorsejten is expresszálódnak (3). Másrészt viszont mind a TLR-ekhez, mind az autofágiához kapcsolódó jelátviteli utak – szigorúan a mindenkori sejttípus és környezet függvényében – tumor-suppresszor hatásúak is lehetnek.

Az autofágia megítélése az utóbbi években jelentősen megváltozott: már nemcsak az eukarióta sejtek homeosztázisának fenntartásában alapvető szerepet játszó mechanizmus, de egyúttal az immunrendszer fontos, integratív eleme, hiszen aktív részese az infekciókontrollnak, a gyulladás és az immunválasz szabályozásának (5). Úgy tűnik, hogy a PAMP/DAMP-ok révén a TLR-jelátvitel és az autofágia egymással szoros függőségben aktiválódnak, és egymást kölcsönösen szabályozni is képesek (6, 7). A daganatsejtek vonatkozásában az autofágia és a TLR-jelátvitel regulációsintéti összefüggései azonban még kevésbé ismertek.

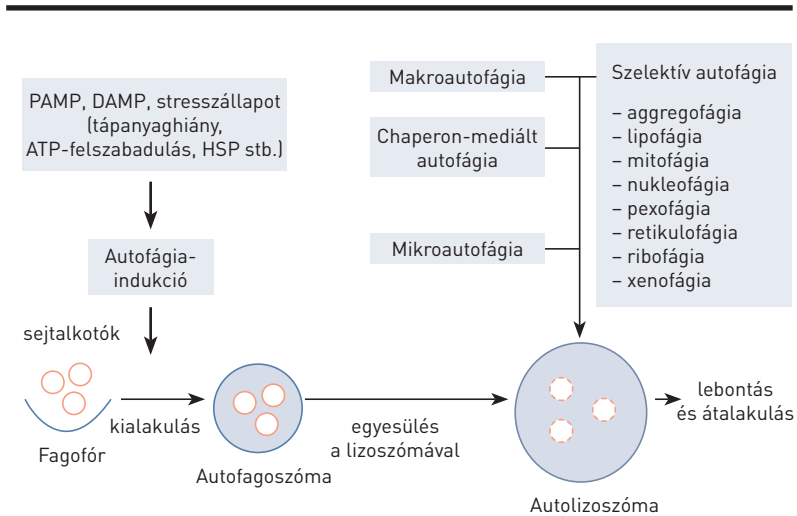
AZ AUTOFÁGIA TÖRTÉNÉSEI

Az ubikvitin-proteaszóma rendszer (UPS) mellett az autofágia eltérő degradációs mechanizmust képvisel, ami evolúciós szempontból a sejtis önmegsejtődés filogenetikailag konzer-vált, összetett folyamatát jelenti. Ennek során feleslegessé vált, károsodott vagy elöregedett fehérjék és sejtorganellumok

kettős membránrétegű vezikulákban (autofagoszómák) szek-vesztrálódnak, majd végül a lizoszómákban megemésztődnek (8). Biológiai szempontból az autofágia számos élettani sejtfunctió (fejlődés és differenciáció, túlélés és öregedés) szabályozásában szerepel (9), sőt a veszélytett és az adaptív immunitás révén alapjaiban befolyásolja a gyulladásos válaszreakció történéseit (immunofágia) (10). A bazális autofágia kulcsfontosságú adaptív és őrző/ellenőrző mechanizmus: a megfelelő proteinturnover szabályozásával elengedhetetlen a sejtek homeosztázisának fenntartásához (11). A sejtek életképességének megőrzése céljából az autofágiát különböző celluláris metabolikus stressztényezők (mint tápanyagok, növekedési faktorok hiánya) is indukálni képesek. A szöveti remodeling részeként a rendellenes szerkezetű fehérjék aggregációja és felhalmozódása szintén fokozza az autofágiát. A természetes immunitás vonatkozásában pedig az autofágia az intracelluláris kórokozók degradációjának nélkülözhetetlen eleme (12, 13).

A lizoszómához történő transzport változatossága, valamint a főbb élettani functiók alapján makro- és mikroautofágia, ill. chaperon-mediált autofágia különböztethető meg (11). Másrészt a citoszolban aggregálódtott fehérjék, lipidek, és a különböző sejtservecskék specifikus, célzott degradációjára alapján az autofágia szelektív típusai (aggrego-, lipo-, ribo-, nukleo-, pexo-, mito-, retikulofágia) is elkülöníthetők (8, 11). A xenofágia pedig az intracelluláris kórokozók eliminációjában szerepet játszó szelektív autofágiatípus (1. és 2. ábra).

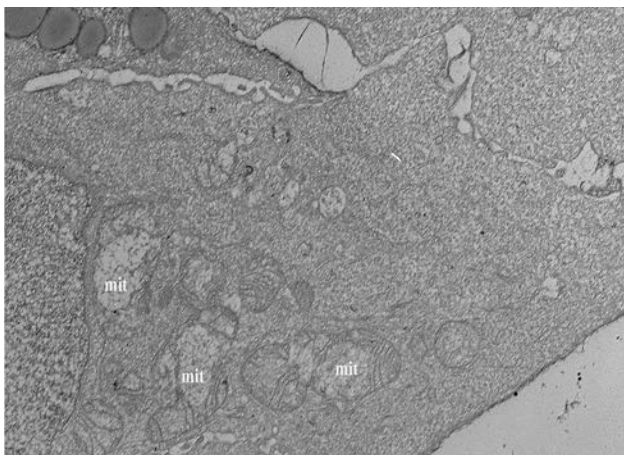
A (makro)autofágia a szubcelluláris alkotók tömeges, nem szelektív lebontását jelenti. Az összetett, néhány autofágia-asszociált gén (ATG) által szigorúan szabályozott katabolikus folyamaton belül jól meghatározott morfológiai állapotok ismertek (13). Kezdetben a szekvesztrálódó molekulák vagy részecskék körül izolációs membrán (fagofór) képződik, ami azután hosszabbodás (elongáció) és érés (maturáció) során autofagoszómává válik, végül pedig összeolvad a lizoszómával (8, 13). E dinamikus lépéseket számos ATG-fehérje közvetíti, mint a lipid kináz komplex Ser/Thr kináz ULK1/2 (ATG1), két járulékos ubikvitinszerű konjugációs rendszerrel (14). A fagofór szabályozásában emlősökben az *Atg6*-nak megfelelő *Beclin1* (*BECN1*) és az *Atg14* gén, valamint az ún. 1. osztályú kanonikus foszfatidilinozitol 3'-kináz/AKT (PI3K/AKT) mTOR (mammalian target of rapamycin) és a c-Jun N-terminális kináz (JNK1) jelátviteli szisztémák vesznek részt (15, 16). A bonyolult autofagoszóma létrejöttét elsősorban az ATG5-ATG12 komplex szabályozza, az ATG16L1 stabilizálja, majd a mikrotubulus-asszociált fehérje könnyű lánc (LC3/ATG8) befolyásolja, ubikvitin jellegű rendszerek (ATG10, ATG7, ATG3) egyidejű kontrollja mellett. A sejtalkotók véletlenszerű vagy szelektív bekebelezését, az autofagoszóma záródását, végül pedig a lizoszómával történő fúziót főleg az LC3 és a Beclin1-UVRAG (UV-irradiáció rezisztencia-asszociált) gének rendszere irányítja (15, 16). A kanonikus (azaz a főbb autofágia-asszociált fehérjék révén megvalósuló) autofágia-út vonal mellett az LC3 a kettős membrán létrejötté nélküli részecske



1. ÁBRA. Az autofágia főbb történései, morfológiai stádiumai, típusai. Számos állapot indukálhat autofágiát, melynek különféle megnyilvánulási formái ismertek

lebontásában is szerepet játszhat, elősegítve a fagoszóma gyorsabb érését. Ez a nem-kanonikus autofágia-út vonal az LC3-asszociált fagocitózis (LAP) [17].

Az autofágia és a stresszválasz során indukálódó intrinszc és extrinsic apoptózis – kiterjedt molekuláris hálózatok révén – egymást kölcsönösen befolyásolni, aktiválni vagy gátolni képesek, megszabva az egyes sejtek „sorsát” [18]. A köztük lévő kapcsolatot elsősorban az ATG6/Beclin1 aktuális állapota határozza meg, hiszen a Beclin1 a Bcl-2/Bcl-xL komplex eleme, a Bcl-2 pedig az autofágia hatékony gátlója. A komplex disszociációját számos tényező, így TLR-adaptor fehérjék (MyD88, TRIF), a MAPK-JNK kaszkád aktivációja, vagy a DAMP fehérje HMGB-1 transzlokációja egyaránt előidézhetheti [15, 18]. Az autofágia és a nukleáris faktor (NF)-



2. ÁBRA. Szelektív autofágia: mitofágia [transzmissziós elektronmikroszkópos felvétel; mit: mitofágia]

κ B jelátviteli útvonalak között is – pozitív/negatív visszacsatolások által – sokrétű az összeköttetés [16]. A p53 tumorszuppresszor gén szintén kettős (serkentő vagy gátló) hatást gyakorol az autofágiára, amit elsősorban a p53 szubcelluláris (nukleáris vagy citoplazmatikus) elhelyezkedése szab meg [15, 16].

AZ AUTOFÁGIA ÉS A MALIGNITÁS ÖSSZEFÜGGÉSEI

A bazális autofágia zavarai citotoxikus anyagok felhalmozódásához, a DNS károsodásához, a genom instabilitásához vezethetnek, míg az indukálható (vagyis a stresszállapotot követő, anabolikus fehérjeképződést elősegítő) autofágia eltérései révén jelentősen csökken a sejtélvélés esélye [12, 13]. A sejtek életképességének veszélyeztetésével a hibás autofágia időlt gyulladásos állapotok, fertőzések, neurodegeneratív kórképek, valamint rosszindulatú daganatok kialakulásában

egyenként lényeges kóroki tényezőnek minősül [11, 12, 19, 20].

A tumorigenezis történéseiben az autofágia jellemzően „kétélű fegyverként” szerepel: egyrészt nélkülözhetetlen a daganatsejtek túléléséhez és progressziójához (különösen celluláris stressz alkalmával), azonban a tumorsejtek pusztulását okozó jelátviteli útvonalakat is aktiválhat. Az autofágia tumorsejttúlélést elősegítő, citoprotektív vagy sejthalált eredményező, tumorszuppresszor funkciója kontextusfüggő, számos intra- és extracelluláris tényező befolyásolja, mint az érintett szövetek típusa, a mikrokörnyezet, a genetikai háttér és a tumorfejlődés aktuális stádiuma [19, 21, 22].

Protumor hatások. A sejtpusztulás tekintetében az autofágia az apoptotikus (programozott, I-es típusú) és a nekrotikus sejthalál eseményeiben is közreműködhet [2]. Daganatsejtekben az autofágia az apoptózis és a nekrosis, valamint a regulált, programozott nekrosis (kaspázfüggetlen nekroptózis, poli-ADP-ribóz [PARP]-mediált nekrosis stb.) gátlásával többnyire a túlélést segíti elő [23]. Az autofágia hiánya viszont önmagában nem feltétlenül tumorszuppresszor hatású, sőt esetenként felgyorsult tumorigenezisre is vezethet. Oxidatív stressz során az autofágiára képtelen sejtekben – autonóm mechanizmusok révén – felhalmozódik a károsodott DNS, és kialakul a kromatin instabilitása [24]. A gyulladás történései pedig – együttesen az apoptózis zavarával – a daganat progresszióját okozhatják [25]. Ez figyelhető meg a magas malignitási kockázattal járó humán IBD-ben, és kísérleti körülmények között *atg5*^{-/-} és *atg7*^{-/-} egerekben is, melyekben a humán IBD-hez hasonló gyulladásos Paneth-sejt-eltéréseket igazoltak [20, 26].

Antitumor hatások. Egyes humán carcinomákban (emlő, ovarium, prostata) a *Beclin1* (*ATG6*) gén monoallélikus kiesését tapasztalva elégtelen tumorszuppresszor-funkciót

igazoltak [27]. Ugyanakkor a Beclin1 tumorellenes aktivitása vélhetően szövetspecifikus, mivel gyomor- és vastagbélrákok esetén fokozott kifejeződését tapasztalták [28]. Különböző daganatokban egyéb autofágia-asszociált gének (pl. *Atg4*, *Atg5*, *UVRAG*, *Bax-kötő fehérje-1* [*Bif-1*]) eltéréseire is fény derült, ami sejteti, hogy a tumorszuppresszor hatás az autofágia eltérő elemeihez kapcsolódhat. Gyomor- és vastagbél-adenocarcinómában az UVRAG nonsense mutációját és a Bif-1 csökkent expresszióját találták [29–31]. Másrészt feltételezhető, hogy a túlzott mértékben indukálódó autofágia a nem-apoptotikus (programozott, II-es típusú) autofágiás sejthalál elősegítésével is közvetíthet tumorszuppresszor aktivitást [32]. Az autofágia az onkogén indukálta sejttöredést (senescence) serkentve is hathat a malignus transzformáció ellen [33]. Mindazonáltal egyelőre nincs konkrét bizonyíték az autofágia egyértelmű, direkt tumorellenes hatására.

Humán tumorokban gyakran megfigyelhető a Ras- és a PI3K/Akt-mTOR útvonalak konstitutív aktivációja, az mTOR-komplex 1 (mTORC1) pedig az autofágia fontos negatív szabályozója [15, 34]. Emellett a p53 gén – már említett kettős (autofágiát serkentő vagy gátló) – szerepe sem hagyható figyelmen kívül [35]. Az autofágia, valamint az extrinsic és intrinsic apoptózis stresszválasz okozta celluláris degradációs útvonalai egymást alapvetően befolyásolhatják (serkenthetik vagy gátolhatják), és a sejtpusztulást végső soron aktuális funkcionális állapotuk és együttműködésük határozza meg [18, 21]. Az NF- κ B szintén fontos szerepet játszik a malignus átalakulásban, hiszen a legtöbb tumorsejtben – konstitutív módon – szintén krónikusan aktivált állapotú. Az autofágia és az NF- κ B viszonylatában is komplex, gátló és serkentő jellegű kölcsönhatások tapasztalhatók [36]. Az autofágia fontos szelektív szubsztátja a p62, ami viszont az NF- κ B szabályozó adaptorfehérjeként is funkcionál [37].

A TOLL-LIKE RECEPTOROK

A természetes immunitás mintázatfelismerő receptorai (PRR) különböző PAMP- és DAMP-alkotókat, általában mikroba-eredetű membránkomponenseket, valamint számos, nem infekció hátterű endogén molekulát (pl. HSP, ROS, ATP, DNS- és RNS-fragmentumok stb.) érzékelnek [4]. A PRR-ek két nagy csoportja ismert, a döntően sejtmembránhoz kötött, illetve a citoplazmában jelen lévő receptorok. A TLR-ek és a C-típusú lektinreceptorok (CLR) a sejtmembránon és az endoszómában expresszálódnak, míg a RIG-szerű receptorok (RLR), a nukleotidkötő és oligomerizációs domén (NOD) és leucingazdag részleteket tartalmazó (NLR) receptorok jellemzően intracelluláris lokalizációjúak.

A TLR-ek 1-es típusú transzmembrán glikoproteinek: extracellulárisan leucingazdag ismétlődő szekvenciákat (LRR) és Toll/interleukin-1 receptor (TIR) jelátviteli domént tartalmaznak. Elsőként a TLR4-et azonosították, de jelenleg emberben már 10, egérben 13 TLR-típus ismert [38]. A TLR-ek elsősorban a veszélytett és az adaptív immunitás sejtfejléséigénjére fejeződnek ki, de némelyiket (TLR4, -5,

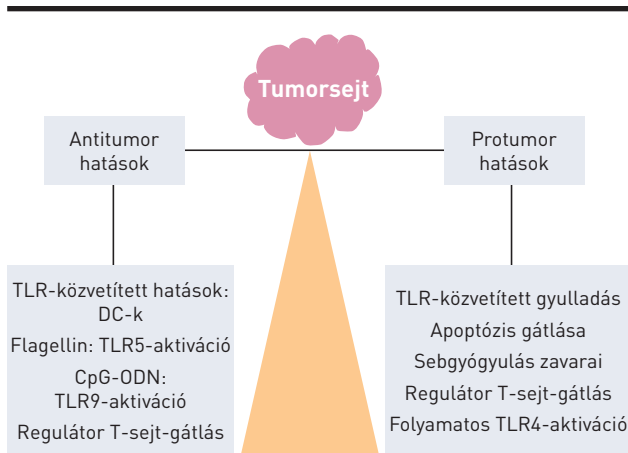
-9) módosult hámsejtek is megjelenítik [39]. A TLR1, -2, -4, -5 és -6 sejt felszíni, míg a TLR3, -7, -8 és -9 intracelluláris elhelyezkedésű [4, 40, 41]. A receptorok a baktériumokban, gombákban, protozoonokban és vírusokban megjelenő specifikus szakaszokat ismerik fel [42, 43]. E motívumok általában lipidek és lipoproteinek (TLR1, -2, -4, -6), bakteriális flagellin (TLR5), vagy nukleinsav-fragmentumok (TLR3, -7, -8, -9). A TLR3 a kettős szálú virális RNS-t, míg a TLR7 és -8 az egyszálú RNS-t érzékeli. A TLR7 emellett autoimmun kórképekben az immunglobulin/saját-RNS komplexeket is megköti. A TLR9-et bakteriális és virális DNS, immunglobulin/DNS komplexek és a nem-metilált CpG-szekvenciákat tartalmazó szintetikus oligonukleotidok (ODN) aktiválják [42, 43].

A TLR-jelátvitel klasszikus/kanonikus és alternatív/nem-kanonikus útvonalai ismertek [44]. A TLR3 kivételével valamennyi receptor MyD88-függő jelátviteli úton keresztül fokozza a proinflammatorikus citokin gének kifejeződését [45]. A TLR3 kizárólag a TRIF-útvonalat használja [45]. A klasszikus gyulladásos jelátvitel leginkább a MyD88 révén aktiválódik, az IRAK (interleukin-1 receptor-asszociált) kinázok és a TRAF6 (TNF-receptor-asszociált faktor 6) egyidejű toborzásával [46]. A TRAF6 a TAK1 (transzformáló növekedési faktor-aktivált kináz-1) által foszforilálja és aktiválja az IKK (inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells kinase) komplexet, és végül az NF- κ B felszabadulását és sejtmagon belüli transzlokációját eredményezi, TNF- α , IL-1- és IL-6-termelést indukálva [40, 41, 47]. A TLR3 és egyes esetekben a TLR4 is – a MyD88-től függetlenül – a TRIF adaptorfehérjén keresztül jelátvitelt érvényesíti. Ez az alternatív útvonal a TRAF3 és az interferonregulátor faktor (IRF)-3 aktivációjában tetőzik, és I-es típusú interferonok szekréciójára vezet [48]. A TLR4 az egyedüli receptor, amelyik mind a klasszikus (TIRAP, MyD88), mind az alternatív (TRIF, TRAM) jelátvitel aktiválására képes [44].

A TOLL-LIKE RECEPTOROK ÉS A MALIGNITÁS KAPCSOLATA

Kimutatták, hogy bizonyos TLR-ek egyes humán tumorokban és daganatsejtvonalakon is megnyilvánulnak. Vastagbélrákban a TLR3, -4, -5, -7, és -8, míg humán vastagbélrák-sejtvonalakon (HCT15, SW620, HT29) egyéb TLR-ek (TLR7, -8 és -9) is expresszálódnak [44, 49–51].

A TLR-ek a tumorsejtekben, ill. a gyulladásos tumoros mikro környezetben közvetített proinflammatorikus, antiapoptotikus, proliferatív vagy fibrózist elősegítő szignáljaik révén stimulálhatják a daganatképződést, elsősorban a túlélés és a migráció fokozásával [52]. A TLR-ek talán legfontosabb tumorigenezist elősegítő hatását az NF- κ B-jelátvitel fokozása jelenti [53–55]. A TLR-ek ezáltal az apoptózis gátlásában is szerephez juthatnak, hiszen az antiapoptotikus gének expressziója és a proapoptotikus útvonalak aktivációjának gátlása részben az NF- κ B révén szabályozódik [56, 57]. Ugyanakkor azt is megfigyelték, hogy a TLR-jelátvitel fokozása – és így az I-es típusú IFN-ok szekréciója – az immuntolerancia helyett



3. ÁBRA. A TLR-jelátvitel karcinogenezisben betöltött „Janus”-arcú szerepe. A TLR-jelátvitel protumor és antitumor hatásokban egyaránt megnyilvánulhat (TLR: Toll-like receptor, DC: dendritikus sejt, ODN: oligodezoxinukleotid)

az antitumor-immunitás erősítésében is szerephez juthat [53]. Tehát a TLR-jelátvitel tumorokban betöltött szerepe kétségtelenül ellentmondásos [3. ábra].

Protumor hatások. A vastagbél adenocarcinomájában a TLR-indukálta NF- κ B-aktiváció fokozhatja a tumorsejtek túlélését [58]. MC26 egér vastagbélrák-sejtvonalon a TLR4 aktivációja a sejtek citotoxikus T-sejt-mediált sejthalállal szembeni rezisztenciáját eredményezte, elősegítve a tumor növekedését [49]. A TLR-jelátvitel által közvetített sebgyógyulás folyamata ugyancsak tumorok kialakulásához vezethet. Kísérletes körülmények között DSS-indukált colitisben a nyálkahártya sérülésével összefüggésben a TLR2/TLR4 aktivációja MyD88-függő módon segíti elő a regenerációt. Ugyanakkor a TLR-MyD88 jelátvitel az epiregulin szabályozása révén vastagbélrák kialakulásához is hozzájárulhat [57, 58]. A thymus involúcióját és a regulátor T-sejtek (Treg) szuppresszióját is megfigyelték, ami kedvez a gyulladás eszkalációjának, tovább súlyosbítva az IBD tüneteit [59–61]. A TLR4-jelátvitel és a Treg-sejtek közötti összefüggés alapján feltételezhető, hogy IBD-ben a kontrollálatlan gyulladás gyengíti a Treg által közvetített gátló funkciókat, és így fokozhatja a gyulladásasszociált karcinogenezist. TLR2-hiányos azoximetán (AOM)-DSS egérmodellben fokozott tumorfejlődést és magasabb IL6/IL17A- és STAT3- (phospho-signal transducer and activator of transcription) szinteket találtak [62], ám ettől függetlenül a colitisasszociált rákok (CAC) előfordulása tekintetében nem volt érdemi különbség a vad típusú és TLR2-deficiens példányok között [63]. A TLR2 CAC-ban betöltött szerepe tehát nem egyértelmű. Megalapozott azonban a TLR4 tumorpromoter hatása. A vastagbélben, ahol folyamatos interakció zajlik a nyálkahártyát kolonizáló, a gazdaszervezettel szimbiózisban élő bélflóra és a bélhámsejtek között, a TLR4 kiütése a CAC

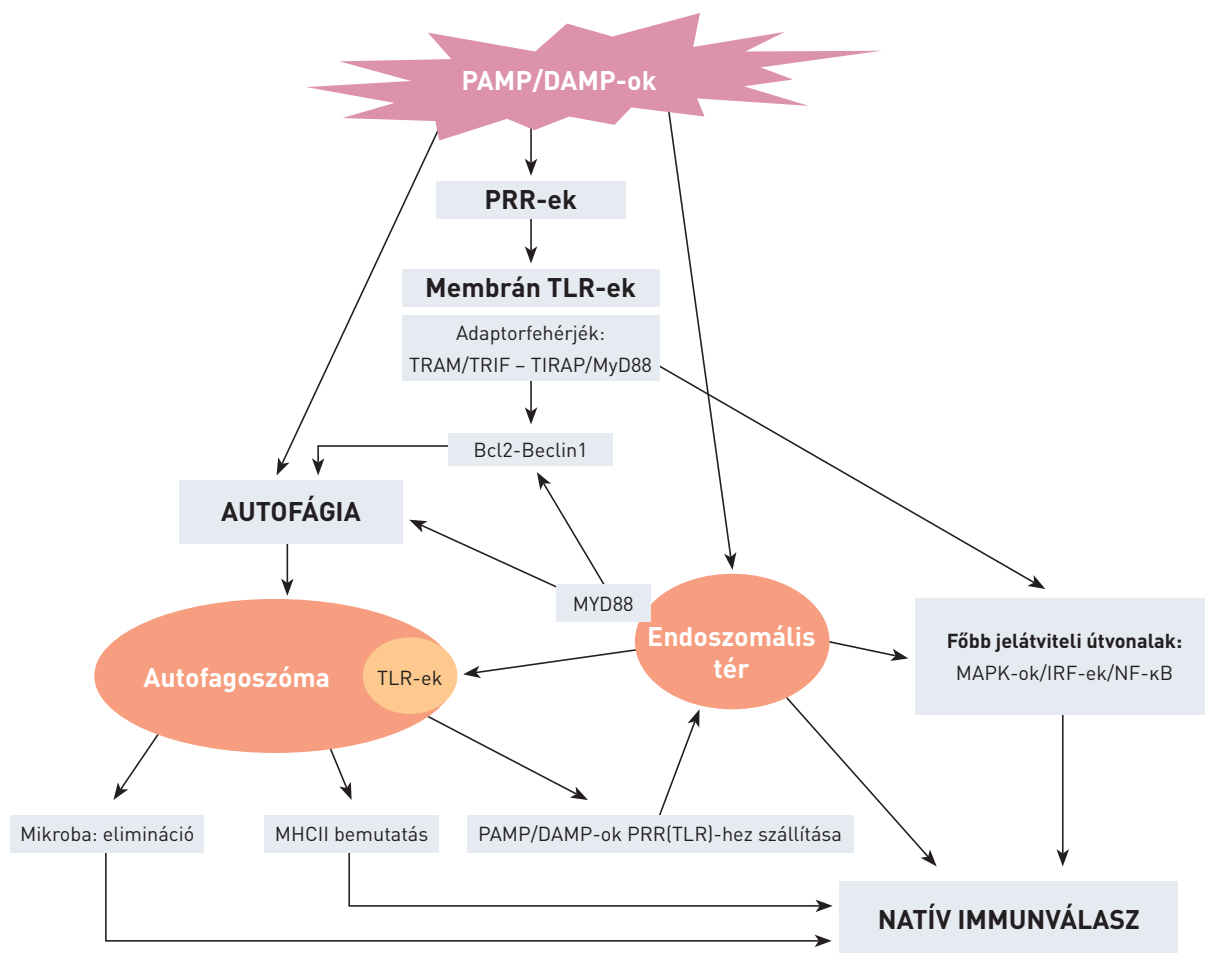
(AOM)-DSS egérmodelljében jelentősen mérsékli a gyulladást és a tumor méretét [64, 65]. Ennek megfelelően az aktivált TLR4 fokozott kifejeződése transzgén egérmodellben növeli a CAC iránti érzékenységet [66]. Másrészt az adaptor MyD88 deléciója, esetleg a TLR4-et aktiváló bélflóra redukciója szintén csökkenti a vastagbélrák kialakulásának esélyét [67, 68]. Humán petefészekrák- és fej-nyaki elszarusodó laphámráksejtekben a TLR4 lipopoliszacharid (LPS) általi aktivációja elősegítette a daganat fejlődését, mérsékelve a tumorelles immunitást és a kemoterápia hatékonyságát [69, 70]. Humán tüdőráksejteken az immunszuppresszív citokinek hatására bekövetkező TLR4-jelátvitel fokozta a tumorsejtek immunválasz előli menekülését (immune escape) és az apoptózissal szembeni rezisztenciájukat [71].

A tumorsejtek antigénprezentáló képessége szegényes, ezért a tumorelles immunválasz elsősorban a „professzionális” antigénbemutató sejtek (APC), főként a dendritikus sejtek (DC) működésén alapul [72]. A daganatsejtekből származó gátló szignálok blokkolhatják a DC-aktivitást, ami T-sejt-deléció, ill. a Treg-sejtek révén immuntoleranciát eredményezhet, elősegítve a tumor progresszióját [72].

Antitumor hatások. A TLR-ek által aktivált DC-k tumorelles aktivitása antigénprezentáció, T-sejt-aktiváció és direkt citotoxicitás révén valósul meg [73, 74]. A DC-ken expresszáldó TLR5 és a plazmocitoid DC-ken kifejeződő TLR9 aktivációja egyaránt kedvez a tumorelles immunitásnak [75, 76]. A DC-mediált tumorsejttölés a citotoxikus T-sejtek felé lényegesen hatékonyabb antigénbemutatót jelent, és így az antitumor immunitás is fokozódhat. A DC-ken megjelenő TLR-ek aktivációja nemcsak az MHCII és a kostimulációs molekulák révén okozhat T-sejt-aktivációt, hanem olyan TLR-indukálta jelek által is, melyek IL-6-függő módon gátolhatják a Treg-sejtek szuppresszív hatását [61]. Az aktivált TLR8 direkt módon is képes a Treg-funkció gátlására, ami kedvező a tumor elleni immunitás tekintetében [77].

Humán vastagbélrák egér xenograft modelljében kimutatták, hogy a TLR5 vagy a MyD88 expressziójának hiánya elősegíti a tumor növekedését, ill. gátolja a nekrozist. Ugyanakkor a peritumorális flagellin-indukálta TLR5-aktiváció jelentősen fokozta a daganatsejtek nekrozisát, tumorregressziót eredményezve [78].

Humán világossejtes veserák és melanoma eseteiben a TLR3-jelátvitel erőteljesen antitumor jellegű lehet [79, 80]. A TLR3 stimulációja a proteinkináz Ca (PKC α) aktivációján keresztül humán emlő- és prosztataráksejtekben fokozott apoptózist idézett elő [81, 82]. Emlőrákban egyébként a TLR3-expresszió változását a kettős szálú RNS terápiás hatékonyságának monitorozására is alkalmasnak ítélték [83]. TLR3-at expresszáldó humán prosztataráksejtekben a poli(I:C) (poliinozin-policitidinsav) tumorelles hatása a gyulladásos citokinprofil és az I-es típusú IFN-ok megváltozott szekréciójában nyilvánult meg, főként az NF- κ B/MAPK-, ill. IRF3-jelátvitelt befolyásolva [84]. Ezt a hatást döntően a PI3K/Akt útvonala inaktíválódása idézte elő.



4. ÁBRA. A PAMP/DAMP-TLR-ek és az autofágia lehetséges összefüggései. A TLR-ligandumok különböző adaptorfehérjéken keresztül fejtik ki hatásaikat. A Beclin1-MyD88 kapcsolódás alapvető molekuláris mechanizmus a TLR-autofágia jelátvitel vonatkozásában. Az autofágia a TLR-jelátvitel egyik végrehajtó mechanizmusa is lehet, ami alapjaiban érinti a természetes immunválaszt (IRF: interferonszabályozó faktor; MAPK: mitogén-aktivált foszfokináz; MyD88: mieloid differenciációs elsődleges válasz gén; NF- κ B: nukleáris faktor- κ B; PAMP: patogén-asszociált molekuláris mintázat; DAMP: veszély-asszociált molekuláris mintázat; PRR: mintázafelismerő receptorok; TIRAP: TLR-Toll-interleukin 1 receptor-domént tartalmazó adaptorfehérje; TRAM: Toll-like receptor 4 adaptorfehérje; TRIF: Toll-interleukin 1 receptor-domént tartalmazó adaptorindukáló interferon)

A TLR-ek között a TLR9 aktivációját egyedülálló módon a DNS idézi elő az aktuális szekvencia- és metilációs státus függvényében. A TLR9 a saját DNS-t és a nem metilált CpG-szekvenciákat tartalmazó oligonukleotidokat is felismeri. A DNS szerkezeti módosítása jelentősen befolyásolja az immunmoduláns (agonista vagy antagonistá), valamint a lehetséges pro- és antitumor hatásokat [51, 85]. A TLR9 szintetikus CpG-ODN-agonisták általi aktivációja egér vastagbélrák xenograft modellben tumorelleses hatásának bizonyult [86]. TLR9-agonisták alkalmazása DC-kben I-es típusú IFN szekrécióját okozta, emellett citotoxikus DC-k, aktivált NK-sejtek és citotoxikus T-sejtek is megjelentek, az immunválasz kedvező (antitumor) változását eredményezve [87, 88].

AZ AUTOFÁGIA ÉS A TLR-EK KÖZÖTTI KÉTIRÁNYÚ KAPCSOLAT

A TLR-ek szerepe az autofágia szabályozásában

A TLR-ek és az autofágia közötti együttműködés a természetes immunitás aktiválódásához vezet [6]. Szinte valamennyi TLR aktivációja képes az autofágia kanonikus típusát indukálni, sőt egyes TLR-ek a natív immunsejtekben LAP-stimulációt is okozhatnak [89], aláhúзва a sejtvesztésben betöltött szerepüket [6, 17, 90]. Feltételezhető, hogy a TLR-ek intrinszik módon is indukálhatják az autofagiát [7]. A természetes immunitásban a fagocitózis elemi védekező mechanizmus: a makrofágok TLR-jelátvitelle egyértelmű összeköttetést terem az autofágia és a fagocitózis között, jórészt átírdő transzdukciós szignálok stimulációja révén [17]. Mi több,

az autofágia jelenleg már a TLR-jelátvitel egyik effektor mechanizmusának minősül [5] (4. ábra).

Ugyanakkor plazmocitoid DC-kben a TLR7 kötését követően az autofágia nem aktiválódik [91]. A DC-kben ugyanis kifejezetten fokozott a bazális autofágia, és immunológiai stimulust követően esetükben az induktív forma nem vagy alig jelenik meg. Másrészt pedig egyéb „konkurens” jelátviteli utak párhuzamos aktiválódása szintén az autofágia gátlására vezethet [7].

A TLR-ek révén aktiválódik az NF- κ B/MAPK (ERK, p38, JNK) és az IRF3/7 jelátviteli kaszkád [92]. A TLR-indukálta autofágia alapvetően a MyD88 és a TRIF adaptorfehérjéktől függ [6, 93]. A TLR-jelátvitel a MyD88 és a TRIF Beclin1-gyel történő interakcióját is fokozza, elősegítve a Beclin1 diszociációját a Bcl-2-vel alkotott komplexéből [92]. Emellett a Beclin1 TRAF6 révén bekövetkező ubikvitinációja stimulálja a TLR4-indukált autofágiát, míg a deubikvitináló hatású A20 enzim aktivációja ellenkezőleg hat [93, 94]. A TLR-stimuláció okozta NF- κ B-aktiváció viszont az autofágia szabályozásában inkább gátló tényezőt jelent.

Az autofágia szerepe a TLR-ek szabályozásában

Celluláris stressztényezők meglétekor az autofágia általában citoprotektív hatású, tehát részvétele a TLR-közvetített proinflammatorikus válasz szabályozásában egyáltalán nem meglepő [95]. Gyulladásos reakciók során az autofágia alapvetően gátló hatású [5]. Az invazív mikroorganizmusok elpusztítása, illetőleg a MyD88 és TRIF fehérjék degradációja révén közvetlenül is befolyásolja a gyulladás lépéseit [96, 97]. Az aggregációra hajlamos TLR-adaptorok túltermelődése citoplazmatikus aggregátumok kialakulására vezethet. Bár az autofágia a TLR-jelátvitel tekintetében döntően gátló tényező, a plazmocitoid DC-kben mégis az ellenkezője valósul meg [95]. *Atg16L1*-deficiens makrofágokban a TLR4 LPS általi stimulációja – túlzott mértékű kaszpáz-1-aktiváció révén – az IL-1 β és az IL-18 túltermelődését eredményezi [98]. LC3B vagy Beclin1 hiánya esetén a makrofágokban a kóros autofágia szabálytalan mitokondriumok, ezáltal reaktív oxigéngyökök (ROS) felhalmozódásához vezethet [98].

Az autofágia elősegíti az endogén virális vagy saját antigének szekvesztrációját, és a T-sejtek felé történő MHCII-függő bemutatásukat [99]. Ugyanakkor azt is megfigyelték, hogy hasonlóan az antigénprezentációhoz, az autofágia mechanizmusa PAMP-okat közvetíthet az endoszomális TLR-ekhez. Ennek alapján az autofágia nemcsak a TLR-ek hatékony effektor mechanizmusa, de elősegíti a PAMP molekulák TLR-ek általi felismerését, vagyis a veleszületett immunválasz kiváltásában is eredményes [91] (3. ábra).

A TLR-ek és az autofágia együttes szerepe tumorokban

A tumorsejtek vonatkozásában a TLR-ek és az autofágia együttes szerepéről eddig csak kevés adat áll rendelkezésre. Tüdőráksejtekben az LPS-sel és poli(I:C)-vel történő TLR4/TLR3 aktiváció, és a következőképpen, a TRIF révén indukált

autofágia – a TRAF6 ubikvitinációja révén – a tumorsejtek migrációját és invázióját stimuláló citokinek és kemokinek szekrécióját eredményezte [100]. Ugyanakkor az autofágia gátlása hatékonyan mérsékelte a MAPK- és az NF- κ B-aktivációhoz nélkülözhetetlen TLR3/TLR4-indukálta jelátvitelt [100].

Kísérletes körülmények között, egerekben CT26 vastagbélráksejtek grafén-oxid- (GO) kezelése során TLR-aktivációt és autofágia indukcióját figyelték meg. A daganatsejtek által fagocitált GO szimultán stimulálta az autofágiát és a TLR4/TLR9 jelátviteli útvonalakat. Az autofágiát a MyD88 és a TRAF6 adaptorok szabályozták. A kísérleti állatokba injektált GO a tumor elleni immunitás, a sejtpusztulás és az autofágia elősegítésével mérsékelte a tumorprogressziót [101].

A DAMP-ként értékelt nem metilált CpG-ODN-eket az immunkompetens sejtek és számos tumorsejt által is expressezt TLR9 ismeri fel. Különböző daganatsejtek proteomikai elemzésével kimutatták, hogy a bakteriális CpG-motívumok számos autofágia-asszociált fehérjét is módosíthatnak [102]. A CpG-TLR9 útvonal és az autofágia jelátvitel között lényeges átfedések igazolódtak. Vastagbél-, emlő- és prosztataráksejtekben egyes CpG-ODN-ek TLR9-függő módon autofágiát indukálnak, aláhúзва a két folyamat közötti szoros kapcsolatot jelentőségét a tumorigenezis folyamatában [103]. Az autofágia indukálta sejthalál potenciális lehetősége mellett az autofágia az endogén citoplazmatikus fehérjék MHCII-függő bemutatását is elősegíti. Vagyis a TLR9-et megjelenítő daganatokban bakteriális háttérű CpG-motívumok potencírozhatják a tumorantigének felismerését, és ezáltal a tumorelles immunitást [104].

Saját vizsgálataink alapján HT29 humán vastagbél-adenocarcinoma sejtvonalon a genomális tumor-DNS szerkezeti változtatásai (metiláció, fragmentáció) – a TLR9-jelátvitel és autofágia szimultán modulálása révén – lényegesen befolyásolták a daganatsejtek túlélését vs. (apoptotikus) pusztulását (közlés alatt).

MEGBESZÉLÉS

Az autofágia és a TLR-ek biológiai hatásaival összefüggő bővülő ismereteink alapján egyre nyilvánvalóbb, hogy a közöttük tapasztalt szoros interakció a tumorigenezis folyamatában is kiemelkedő fontosságú. Kétségtelenül bonyolult, összetett szabályozó hálózataik számos más jelátviteli útvonallal és celluláris programmal állnak kapcsolatban. Az autofágia lényeges tényezője a sejtek túlélésének, hiszen befolyásolja a sejthalál egyes típusait, így az apoptózist, a nekrozist, a nekroptózist, sőt extrém mértékű aktivációja önmagában is sejtpusztulást okozhat. Az utóbbi évek kutatásai az autofágia immunválaszban betöltött szerepéről is egyre több részletet tártak fel: egyértelművé vált, hogy az autofágia az immunitás integráns részét képezi [6, 95, 99]. Az immunológiai autofágia főbb funkciói között említhető a kórokozók közvetlen eliminációjának készsége, részvétel a citoplazmatikus antigének feldolgozásában és MHCII-függő bemutatásában, valamint a T/B-sejt homeosztázis, az immuntolerancia és a gyulladásos

jelátvitel szabályozásában [5]. A természetes immunreakciók révén beinduló gyulladásos válasz alapvető a protektív immunitás kiváltásában, melynek a tumorok elleni immunfelügyelet (surveillance) is integráns része. Ugyanakkor a PRR-jelátvitel túlzott mértékű aktiválódása – együttesen a következményes gyulladásos mikrokörnyezettel – a tumorigenezis kétségtelen tényezőjeként értékelhető [105]. Lényegesen ellentmondásosabb az autofágia és a TLR-ek tumorképződésben betöltött szerepe: jelátviteli rendszereik protumor (túlélést és progressziót serkentő), és antitumor (sejthalált elősegítő) hatásokban egyaránt megnyilvánulhatnak. Szigorúan kontextusfüggő, „Janus-arcú” hatásaik ellenére mindkét mechanizmus célzott befolyásolása elméletileg ígéretes új lehetőséget képviselhet a daganatterápiában, de akár a megelőzés terén is.

Autofágia-kompetens tumorsejtekben kemo- és radioterápiát követően az autofágia gyakran fokozódik, ami főként adaptív túlélő mechanizmust jelent, és terápiarezisztenciát eredményezhet. Így nem kizárt, hogy adjuváns jellegű farmakológiai blokkolása (pl. lizoszómainhibitorokkal, mint klorokvin, hidroxiklorokvin) a daganatsejteket számos rákellenes gyógyszerrel szemben érzékenyítheti [35, 106, 107]. Autofágia-deficiens tumorokban viszont célszerűbb lehet metabolikus stresszt és DNS-károsodást kiváltó terápiás protokollok alkalmazása.

A tumor típusától, jellemzőitől függően az autofágia indukciója is (pl. mTOR-gátlás, ER-stressz csökkentése, IP3-gátlás révén) effektív terápiás alternatívát jelenthet [35, 106, 107]. Hasonlóképpen a BCG sejtfalakotói által kiváltott TLR-szignál autofágia indukciója révén fokozhatja egyes vastagbélráksejtek radioszenzitivitását [108]. Ráadásul az extrém mértékű autofágia citotoxicitásával is számolni lehet, mely vélhetően az apoptózis inherens zavarával is társul [109].

A közelmúltban a rákellenes szerek újfajta hatásmechanizmusát igazolták. Eszerint a tumorsejtekben megjelenő, a DAMP-ok felszabadulásához kapcsolódó premortem autofágia nélkülözhetetlen a kemoterápiát követő immunogén sejthalál (ICD) kiváltásában, vagyis az autofágia hiánya jelentősen csökkenti a tumorsejtek adaptív jellegű, tumorelles immunválaszt indukáló képességét [110]. A tumorsejtekből

származó némely DAMP molekula, mint pl. a calreticulin, a HMGB1, hősokkfehérjék (HSP70/90), az adenzinotriposzfát (ATP) tehát meghatározza, hogy a sejthalál immunogén (ICD) lesz-e, és így része a protektív immunválasznak, vagy a tolerogén (TCD) immunitás serkentésével a tumor progresszióját segíti elő [111]. A PRR-TLR-ek viszonylatában a chaperon HSP-k főként a TLR4-gyel, kisebb valószínűséggel a TLR2-vel lépnek interakcióba, és ily módon fokozzák a pusztuló sejtek bekebelezését, a tumorantigének DC-k általi feldolgozását és bemutatását és a T-sejt-aktivációt. Az autofágia és a DAMP-ok komplex együttműködése alapjaiban befolyásolja a sejthalál biológiai alternatíváit, és fontos szerepet tölt be a tumorspecifikus immunválasz kialakításában [112–114]. Érthető tehát, hogy az autofágia és a PRR-ek közti összefüggések elméleti hátterének további, még egyértelműbb feltárása alapot teremthet a folyamatok – sejt- és kontextusfüggő – célzott befolyásolására, vagyis új tumorelles terápiás stratégiák kifejlesztésére.

Az elmúlt években a nanomedicina a daganatgyógyászat gyorsan fejlődő területévé nőtte ki magát. Számos nanomedicinális technika, így a lipid- vagy polimerbázisú gyógyszer-molekula-bejuttatás is a klinikai gyakorlat részévé vált [115]. A nanorészecske-autofágia jelentős lehet a partikulumok „sorsának” endocitózist követő alakulásában, vagyis mint gyógyszerhordozó, változtathat a kezelés hatékonyságán [116]. Ezen új, ígéretes manipulációs technika elsőrendű célja egyre szelektívebb tumorelles hatású gyógyszerek kifejlesztése [117].

Nem szabad azonban figyelmen kívül hagyni, hogy a karcinogenezisre gyakorolt kétélű hatásaik következtében az autofágia és a TLR-ek jelátviteli mechanizmusainak modulálása különös körültekintést és óvatosságot igényel. Széleskörű potenciális biológiai funkcióik alapján ugyanis farmakológiai manipulációjuk esetleg nem várt, szokatlan, sőt ártalmas szervezeti reakciókra vezethet. A „személyre szabott” kezelés szellemében a jövő kutatásainak egyik várható iránya az egyes daganattípusokra jellemző „egyedi” autofágia-TLR kölcsönhatások felfedése, szoros összefüggésben a gyulladásos stróma és az immunogenitás sajátosságaival.

VÁLOGATOTT IRODALOMJEGYZÉK

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144:646–674, 2011
2. Lorin S, Hamai A, Mehrpour M, et al. Autophagy regulation and its role in cancer. *Semin Cancer Biol* 23:361–379, 2013
3. Tang D, Kang R, Coyne CB, et al. PAMPs and DAMPs: signals that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev* 249:158–175, 2012
4. Deretic V, Saitoh T, Akira S. Autophagy in infection, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 13:722–737, 2013
5. Delgado MA, Elmaoued RA, Davis AS, et al. Toll-like receptors control autophagy. *EMBO J* 27:1110–1121, 2008
6. Delgado MA, Deretic V. Toll-like receptors in control of immunological autophagy. *Cell Death Differ* 16:976–983, 2009
7. Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 6:463–477, 2004

10. Levine B, Deretic V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 7:767–777, 2007
11. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 451:1069–1075, 2008
12. Sanjuan MA, Dillon CP, Tait SW, et al. Toll-like receptor signalling in macrophages links the autophagy pathway to phagocytosis. *Nature* 450:1253–1257, 2007
13. Levine B. Cell biology: autophagy and cancer. *Nature* 446:745–747, 2007
14. Mathew R, Karantza-Wadsworth V, White E. Role of autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer* 7:961–967, 2007
15. Sun K, Deng W, Zhang S, et al. Paradoxical roles of autophagy in different stages of tumorigenesis: protector for normal or cancer cells. *Cell Biosci* 3:35, 2013
16. Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell* 10:51–64, 2006

35. Chen N, Debnath J. Autophagy and tumorigenesis. *FEBS Lett* 584:1427–1435, 2010
36. Trocoli A, Djavaheri-Mergny M. The complex interplay between autophagy and NF- κ B signaling pathways in cancer cells. *Am J Cancer Res* 1:629–649, 2011
44. Basith S, Manavalan B, Yoo TH, et al. Roles of toll-like receptors in cancer: a double-edged sword for defense and offense. *Arch Pharm Res* 35:1297–1316, 2012
50. Fűri I, Sipos F, Germann TM, et al. Epithelial toll-like receptor 9 signaling in colorectal inflammation and cancer: clinico-pathogenic aspects. *World J Gastroenterol* 19:4119–4126, 2013
51. Fűri I, Sipos F, Spisák S, et al. Association of self-DNA mediated TLR9-related gene, DNA methyltransferase, and cytokeratin protein expression alterations in HT29-cells to DNA fragment length and methylation status. *Sci World J* 2013:293296, 2013
53. Pradere JP, Dapito DH, Schwabe RF. The Yin and Yang of Toll-like receptors in cancer. *Oncogene* 33:3485–3495, 2014
55. Popivanova BK, Kitamura K, Wu Y, et al. Blocking TNF- α in mice reduces colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis. *J Clin Invest* 118:560–570, 2008
56. Dutta J, Fan Y, Gupta N, et al. Current insights into the regulation of programmed cell death by NF- κ B. *Oncogene* 25:6800–6816, 2006
60. Erdman SE, Pouthahidis T. Roles for inflammation and regulatory T cells in colon cancer. *Toxicol Pathol* 38:76–87, 2010
64. Sipos F, Fűri I, Constantinovits M, et al. Contribution of TLR signaling to the pathogenesis of colitis-associated cancer in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 20:12713–12721, 2014
65. Fukata M, Hernandez Y, Conduah D, et al. Innate immune signaling by Toll-like receptor-4 (TLR4) shapes the inflammatory microenvironment in colitis-associated tumors. *Inflamm Bowel Dis* 15:997–1006, 2009
66. Fukata M, Shang L, Santaolalla R, et al. Constitutive activation of epithelial TLR4 augments inflammatory responses to mucosal injury and drives colitis-associated tumorigenesis. *Inflamm Bowel Dis* 17:1464–1473, 2011
69. Szajnik M, Szczepanski MJ, Czystowska M, et al. TLR4 signaling induced by lipopolysaccharide or paclitaxel regulates tumor survival and chemoresistance in ovarian cancer. *Oncogene* 28:4353–4363, 2009
70. Szczepanski MJ, Czystowska M, Szajnik M, et al. Triggering of Toll-like receptor 4 expressed on human head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor development and protects the tumor from immune attack. *Cancer Res* 69:3105–3113, 2009
71. He W, Liu Q, Wang L, et al. TLR4 signaling promotes immune escape of human lung cancer cells by inducing immunosuppressive cytokines and apoptosis resistance. *Mol Immunol* 44:2850–2859, 2007
73. Garaude J, Kent A, van Rooijen N, et al. Simultaneous targeting of toll- and nod-like receptors induces effective tumor-specific immune responses. *Sci Transl Med* 4:120ra16, 2012
76. Nierkens S, den Brok MH, Garcia Z, et al. Immune adjuvant efficacy of CpG oligonucleotide in cancer treatment is founded specifically upon TLR9 function in plasmacytoid dendritic cells. *Cancer Res* 71:6428–6437, 2011
79. Morikawa T, Sugiyama A, Kume H, et al. Identification of Toll-like receptor 3 as a potential therapeutic target in clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 13:5703–5709, 2007
80. Salaun B, Lebecque S, Matikainen S, et al. Toll-like receptor 3 expressed by melanoma cells as a target for therapy? *Clin Cancer Res* 13:4565–4574, 2007
81. Salaun B, Coste I, Rissoan MC, et al. TLR3 can directly trigger apoptosis in human cancer cells. *J Immunol* 176:4894–4901, 2006
82. Paone A, Starace D, Galli R, et al. Toll-like receptor 3 triggers apoptosis of human prostate cancer cells through a PKC- α -dependent mechanism. *Carcinogenesis* 29:1334–1342, 2008
83. Salaun B, Zitvogel L, Asselin-Paturel C, et al. TLR3 as a biomarker for the therapeutic efficacy of double-stranded RNA in breast cancer. *Cancer Res* 71:1607–1614, 2011
84. Harashima N, Inao T, Imamura R, et al. Roles of the PI3K/Akt pathway and autophagy in TLR3 signaling-induced apoptosis and growth arrest of human prostate cancer cells. *Cancer Immunol Immunother* 61:667–676, 2012
85. Sipos F, Múzes G, Fűri I, et al. Intravenous administration of a single-dose free-circulating DNA of colitic origin improves severe murine DSS-colitis. *Pathol Oncol Res* 20:867–877, 2014
87. Krieg AM. Development of TLR9 agonists for cancer therapy. *J Clin Invest* 117:1184–1194, 2007
89. Mehta P, Henault J, Kolbeck R, et al. Noncanonical autophagy: one small step for LC3, one giant leap for immunity. *Curr Opin Immunol* 26C:69–75, 2014
92. Lee MS, Kim YJ. Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk. *Annu Rev Biochem* 76:447–480, 2007
93. Zhan Z, Xie X, Cao H, et al. Autophagy facilitates TLR4- and TLR3-triggered migration and invasion of lung cancer cells through the promotion of TRAF6 ubiquitination. *Autophagy* 10:257–268, 2014
94. Shi CS, Kehrl JH. TRAF6 and A20 regulate lysine 63-linked ubiquitination of Beclin-1 to control TLR4-induced autophagy. *Sci Signal* 3:ra42, 2010
95. Netea-Maier RT, Plantinga TS, Van De Veerdonk FL, et al. Modulation of inflammation by autophagy: consequences for human disease. *Autophagy* 2015 (epub ahead of print) PMID:26222012
96. Knaevelsrud H, Simonsen A. Fighting disease by selective autophagy of aggregate-prone proteins. *FEBS Lett* 584:2635–2645, 2010
98. Saitoh T, Fujita N, Jang MH, et al. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 β production. *Nature* 456:264–268, 2008
99. Schmid D, Munz C. Innate and adaptive immunity through autophagy. *Immunity* 27:11–21, 2007
101. Chen GY, Chen CL, Tuan HY, et al. Graphene oxide triggers Toll-like receptors/autophagy responses in vitro and inhibits tumor growth in vivo. *Adv Healthc Mater* 3:1486–1495, 2014
103. Múzes G, Constantinovits M, Fűri I, et al. Interaction of autophagy and Toll-like receptors: a regulatory cross-talk – even in cancer cells? *Curr Drug Targets* 15:743–752, 2014
105. White E, Mehnert JM, Chan CS. Autophagy, metabolism, and cancer. *Clin Cancer Res* 21:5037–5046, 2015
106. Zhou S, Zhao L, Kuang M, et al. Autophagy in tumorigenesis and cancer therapy: Dr. Jekyll or Mr. Hyde? *Cancer Lett* 323:115–127, 2012
109. Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, et al. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:741–752, 2007
110. Michaud M, Martins I, Sukkurwala AQ, et al. Autophagy-dependent anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice. *Science* 334:1573–1577, 2011
111. Green DR, Ferguson T, Zitvogel L, et al. Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nat Rev Immunol* 9:353–363, 2009
112. Hou W, Zhang Q, Yan Z, et al. Strange attractors: DAMPs and autophagy link tumor cell death and immunity. *Cell Death Dis* 4:e966, 2013
113. Lee JG, Shin JH, Shim HS, et al. Autophagy contributes to the chemoresistance of non-small cell lung cancer in hypoxic conditions. *Respir Res* 16:138, 2015
114. Martins JD, Liberal J, Silva A, et al. Autophagy and inflammasome interplay. *DNA Cell Biol* 34:274–281, 2015
115. Allen TM, Cheng WW, Hare JL, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lipidic nano-particles in cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 6:513–523, 2006
116. Zhang X, Dong Y, Zeng X, et al. The effect of autophagy inhibitors on drug delivery using biodegradable polymer nanoparticles in cancer treatment. *Biomaterials* 35:1932–1943, 2014
117. Sapra P, Allen TM. Internalizing antibodies are necessary for improved therapeutic efficacy of antibody-targeted liposomal drugs. *Cancer Res* 62:7190–7194, 2002

(A teljes irodalomjegyzék az online változatban olvasható.)